

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭60-172292

⑤ Int.Cl. <sup>4</sup>	識別記号	庁内整理番号	⑬ 公開 昭和60年(1985)9月5日
C 12 P 13/04		8213-4B	
C 07 B 55/00		7457-4H	
//(C 12 P 13/04			
C 12 R 1:38)		6760-4B	
(C 12 P 13/04			
C 12 R 1:01)		6760-4B	審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)

⑭ 発明の名称 ホモシステインのラセミ化方法

⑮ 特 願 昭59-26935

⑯ 出 願 昭59(1984)2月17日

⑰ 発 明 者	中 村 武 史	逗子市久木4-10-8
⑰ 発 明 者	左 右 田 健 次	宇治市木幡御蔵山45-61
⑰ 発 明 者	田 中 英 彦	京都市伏見区日野慈悲町21-10
⑰ 発 明 者	牧 口 信 義	藤沢市本鶴沼2-12-23
⑰ 出 願 人	三井東圧化学株式会社	東京都千代田区霞が関3丁目2番5号

#### 明 細 書

##### 1 発明の名称

ホモシステインのラセミ化方法

##### 2 特許請求の範囲

シュードモナス属またはアエロモナス属に属する菌株を培養し、その培養物またはその培養物から分離した培養菌体またはその培養菌体からの抽出物の存在下で、ホモシステインをラセミ化することを特徴とするホモシステインのラセミ化方法。

##### 3 発明の詳細な説明

本発明は、ホモシステインをラセミ化する方法に関し、更に詳しくは、シュードモナス(Pseudomonas)属またはアエロモナス(Aeromonas)属に属する菌株を培養し、その培養物またはその培養物から分離した培養菌体またはその培養菌体からの抽出物の存在下で、ホモシステインをラセミ化する方法に関する。

ホモシステインは、L-システインまたはL-メチオニン合成用の原料として使用される。

ホモシステインは分子中に不斉炭素1個を有するアミノ酸であり、L型およびD型が存在する。発酵法および酵素法で得られるホモシステインは通常L型であり、合成法で得られるホモシステインは通常DL型である。必要に応じてホモシステインを光学分割とラセミ化の繰り返しによって、D-ホモシステインからL-ホモシステインまたはL-ホモシステインからD-ホモシステインに変換し得る。

従来ホモシステインのラセミ化方法としては、ホモシステインの水溶液を高圧高温処理する方法が知られているが、この方法は次のような欠点を有する。即ち、(1)高圧加熱操作を必要とするためにラセミ化に多量のエネルギーを必要とする。(2)共存する他のアミノ酸もラセミ化する。例えば、D-ホモシステインとL-システインの混合液の場合、D-ホモシステインのみならず、L-システインをもラセミ化する。(3)共存する酵素をも失活させる。例えば、シスタチオニンβ-シントラーゼとγ-シスタチオナーゼの存在下、DL-ホモ

システインからL-システインを製造する工程において、未反応のD-ホモシステインをこの方法でラセミ化処理すると、生成したL-システインをラセミ化するのみならず、反応を触媒する酵素をも失活させる。

本発明者らは、前記の欠点のないラセミ化方法を種々検討した結果、シュードモナス属またはアエロモナス属に属するある菌株の培養物またはその培養物から分離した培養菌体、またはその培養菌体からの抽出物の存在下で、ホモシステインがラセミ化することを見出し、その発見に基づいて本発明を完成させた。

本発明の実施には、シュードモナス属またはアエロモナス属に属する多くの菌株が用いられ、例えば、後述の実施例に示したように、シュードモナス・プチダ (*Pseudomonas putida*) IFO 12996、アエロモナス・プンクタータ・サブスピーシーズ・キャビエ (*Aeromonas punctata* subspecies *caviae*) MT-10243 (FERM BP-21) などが用いられる。

酸第二水素カリウム、塩化カリウム、塩化ナトリウム、硫酸マグネシウム、硫酸第一鉄なども必要に応じて使用すると好都合である。

本発明に使用する酵素源としては、微生物の培養物そのまま、または、培養液から遠心分離などの方法により採取した生菌体、その乾燥菌体あるいは菌体を破砕、自己消化、超音波処理などの処理により得られた菌体処理物、更にはこれらの菌体よりの抽出物並びに該抽出物より得られる酵素の粗製物が利用可能である。勿論、これらの固定化酵素または固定化菌体でもよい。

ホモシステインのラセミ化反応は、水溶液中で行なわれるが、ホモシステインの濃度には特に制限はない。

反応温度は20～50℃、反応液のpHは5～10の範囲内が好適である。

次に実施例により本発明を説明するが、実施例におけるホモシステインのラセミ化の程度は、旋光度および液体クロマトグラフィーでD体、L体を分離定量することにより行なった。なお、%は

これら微生物の培養は、通常、振盪培養あるいは通気攪拌深部培養などの好気的条件下で行なり。培養温度は、20～50℃であり、培養中の培地のpHは、中性または微アルカリ性附近に維持することが望ましい。培養期間は、通常、1～3日間である。

培地に使用する炭素源および窒素源は、使用菌の利用可能なものならば何れの種類を用いてもよい。即ち、炭素源としては、グルコース、グリセロール、フラクトース、シュクロース、澱粉加水分解液、糊蜜などの種々の炭水化物が使用できる。窒素源としては、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、炭酸アンモニウム、酢酸アンモニウムなどの各種の無機および有機アンモニウム塩類、または肉エキスを、酵母エキスを、コーン・ステープ・リカー、カゼイン加水分解物、フィッシュミールあるいはその消化物などの天然有機窒素源が使用可能である。天然有機窒素源の多くの場合は、窒素源であるとともに炭素源にもなり得る。更に無機物として硝酸第一水素カリウム、燐

全て重量%で示した。

#### 実施例1

シュードモナス・プチダ IFO 12996 を次の組成の培地50mlを入れた坂口フラスコに一白金耳接し、30℃で24時間振盪培養した。

培地組成	肉エキス	1.0%
	ペプトン	0.5%
	酵母エキス	0.1%

初期 pH 7.0

培養液1ℓを遠心分離して、菌体を集め次のラセミ化反応に供した。L-ホモシステイン6g、ピリドキサル磷酸10mg、1,4-ジチオスレイトール100mg、ピロリン酸ナトリウム1.3gを含む水溶液100mlに培養液1ℓ分から得られた遠心菌体を加え、窒素シール中でゆるやかに攪拌しながら、37℃で48時間反応を行なった。反応後に分析を行なったところ、反応液中にはL-ホモシステイン3.2g、D-ホモシステイン2.7gが含まれていた。

#### 実施例2

実施例1のL-ホモシステインの代りに、D-ホモシステインを用いて同様に試験した。反応液を分析した結果、D-ホモシステイン3.3g、L-ホモシステイン2.5gが含まれていた。

実施例3

実施例1のシェードモナス・ブチダ IPO 12996の代りに、アエロモナス・ブクスタータ・サブスビーシーズ・キャピエ MT-10243（微工研発第21号）を用いて同様に試験した。反応液を分析した結果、L-ホモシステイン3.1g、D-ホモシステイン2.8gが含まれていた。

実施例4

実施例3のL-ホモシステインの代りに、D-ホモシステインを用いて同様に試験した。反応液を分析した結果、D-ホモシステイン3.0g、L-ホモシステイン2.9gが含まれていた。

特許出願人

三井東圧化学株式会社

46699-2001

**DELPHION****RESEARCH****PRODUCTS****INSIDE DELPHION**[Log Out](#) [Work Files](#) [Saved Searches](#)[My Account](#)Search: [Quick/Number](#) [Boolean](#) [Advanced](#) [Der](#)**The Delphion Integrated View**Get Now: ☒ [PDF](#) | [File History](#) | [Other choices](#)Tools: [Add to Work File:](#) [Create new Work](#)View: [INPADOC](#) | Jump to: [Top](#) [Go to: Derwent](#)[Ema](#)Title: **JP60172292A2: METHOD OF RACEMIZATION OF HOMOCYSTEINE**Derwent Title: Racemisation of homocysteine - using culture of Aeromonas Pseudomonas strain [\[Derwent Record\]](#)Country: **JP Japan**Kind: **A**Inventor: **NAKAMURA TAKESHI;  
SODA KENJI;  
TANAKA HIDEHIKO;  
MAKIGUCHI NOBUYOSHI;**Assignee: **MITSUI TOATSU CHEM INC**  
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)Published / Filed: **1985-09-05 / 1984-02-17**Application Number: **JP1984000026935**IPC Code: Advanced: **C07B 55/00; C12P 13/04; C12R 1/01; C12R 1/38;**  
Core: **C12P 13/00;** more...  
IPC-7: **C07B 55/00; C12P 13/04;**Priority Number: **1984-02-17 JP1984000026935**Abstract: **PURPOSE:** To racemize the titled compound useful for synthesizing L-cysteine, etc. under mild conditions without racemizing other amino acids, by cultivating a strain belonging to the genus Pseudomonas, treating homocysteine in the presence of the culture or cultivated mold.**CONSTITUTION:** A strain belonging to the genus Pseudomonas (e.g., Pseudomonas putida IFO 12996, etc.) or to the genus Aeromonas (e.g., Aeromonas punctata subspecies caviae MT-10243, etc.) is cultivated, and in the presence of the culture or a bacterial cell separated from the culture or an extract obtained from the bacterial cell, homocysteine is treated with an aqueous solution containing pyridoxal phosphate, 1,4-dithiothreitol, and sodium pyrophosphate, to racemize homocysteine.**COPYRIGHT:** (C)1985,JPO&JapioFamily: **None**Other Abstract Info: **CHEMABS 104(05)033046P CAN104(05)033046P**[Nominate this for the Gallery...](#)



Copyright © 1997-2006 The Thoi

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact U](#)

BEST AVAILABLE COPY